

Changes of immunoreactive neuropeptide Y, somatostatin and corticotropin-releasing factor (CRF) in the brain of a novel epileptic mutant rat, Ihara's genetically epileptic rat (IGER)

著者	高橋 良斉
発行年	2000-09-13
その他の言語のタイトル	Ihara's genetically epileptic ratにおける脳内 neuropeptide Y, somatostatinおよび corticotropin-releasing factorの変化 Ihara's genetically epileptic rat ニ オケル ノ ウナイ neuropeptide Y, somatostatin オヨビ corticotropin-releasing factor ノ ヘンカ
URL	http://hdl.handle.net/10422/2698

氏名・(本籍)	高橋良斉(大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士(論)第273号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成12年9月13日
学位論文題目	Changes of immunoreactive neuropeptide Y, somatostatin and corticotropin-releasing factor(CRF) in the brain of a novel epileptic mutant rat, Ihara's genetically epileptic rat(IGER) (Ihara's genetically epileptic rat における脳内 neuropeptide Y, somatostatin および corticotropin-releasing factor の変化)
	審査委員 主査 教授 木村 宏 副査 教授 松田 昌之 副査 教授 大川 匡子

論文内容の要旨

【目 的】

てんかん発作発現の機序に関して、いくつかの脳内神経ペプチド、中でも海馬における neuropeptide Y(NPY)、somatostatin、corticotropin-releasing factor(CRF) などの変化が数多く報告されてきた。しかし、これらのペプチドについては、けいれん発作の亢進作用と同時に抑制作用も報告されるなど、機能的役割についての一致した見解は得られていない。また、キンドリングラットなどの実験てんかんモデルラットにおける検討に比して、遺伝性てんかんモデルラットにおける脳内神経ペプチドの変化はこれまで報告されてこなかった。遺伝性モデルに関しては、欠神様発作および強直性けいれんを自発的に発症する spontaneously epileptic rat(SER) の辺縁系における神経ペプチド含量を検討した我々の報告が存在するのみである。

今回我々は、異なる遺伝性てんかんラットであり、5か月齢頃より外的刺激を加えることなく自発性に全身性のけいれん発作を発症する Ihara's Genetically Epileptic Rat(IGER) に着目した。IGER の辺縁系における NPY、somatostatin、CRF の変化を検討し、SER での所見と比較することにより、けいれん発作に対する役割を明らかにすることを目的として以下の実験を行った。

【方 法】

使用ラット：自発けいれんを起こさない2か月齢 IGER、自発けいれんを起こす8か月齢 IGER を用いた。雄 IGER と雌 Wistar rat の間で戻し交配を行った1世代目の2か月齢 F-1 個体、8か月齢 F-1 個体を対照群として用いた。

radioimmunoassay : Glowinski and Iversen の方法により、脳を中隔、扁桃核、視床下部、前頭葉、海馬、梨状葉および嗅内野に分離しホモジナイズした後、酢酸を用いてペプチドを抽出した。抗 NPY 抗体、抗 somatostatin 抗体、抗 CRF 抗体を第1抗体、¹²⁵I 標識 NPY、¹²⁵I 標識 somatostatin、¹²⁵I 標識 CRF をトレーサーとして、double-antibody 法により radioimmunoassay を行い、各ペプチド含量の定量を行った。

統計処理 : SPSS program により、2-way ANOVA、1-way ANOVA、multiple comparison を用いて行った。

【結 果】

NPY : 2か月齢ラットの海馬において、IGER では対照群に比して NPY 含量が増加していた。8か月齢ラットの海馬において、IGER では対照群に比して NPY 含量が増加していた。8か月齢 IGER での NPY 含量は2か月齢 IGER と比較しても有意に増加していた。また、8か月齢 IGER では、中隔、嗅内野、梨状葉において海馬と同様の NPY 含量増加を認めた。

somatostatin : 中隔、扁桃核、視床下部、前頭葉、海馬において、2か月齢ラットに比して8か月

齢ラットでは somatostatin 含量が増加していたが、IGER と対照群との間に有意差は認めなかった。CRF：中隔、扁桃核、前頭葉、海馬、梨状葉および嗅内野において、2か月齢ラットに比して8か月齢ラットでは CRF 含量が減少していたが、IGER と対照群との間に有意差を認めなかった。

【考 察】

IGER は5か月齢頃より自発性に全身性のけいれん発作を発症するが、発作に際しては、皮質に比して常に海馬の発火が先行することが脳波検査から示されている。けいれん発作を起こさない2か月齢 IGER の海馬において、すでに NPY 含量が増加していたことは、これが発作の結果ではなく原因のひとつであること、つまり NPY が遺伝的なけいれん準備性の異常に関与していることを強く示唆する。けいれん発作を起こす8か月齢 IGER の海馬ではさらに NPY 含量が増加していた。我々はこれまでに、SER の海馬では対照群に比して NPY 含量が増加していることを報告したが、今回の結果はこれと一致しており、遺伝性てんかんラットに普遍的な変化であると考えられる。また、海馬への入力線維を有する嗅内野、梨状葉において、けいれん発作発現後に海馬と同様に NPY 含量が増加したことは、NPY が関連する発作発現機序が、発火点である海馬から周辺の辺縁系に影響を与えることを示唆する。

辺縁系各部位における somatostatin、CRF 含量については、加齢による影響が観察されたが、IGER と対照群の間に有意差は認めず、海馬全体の含量の変化としてはけいれん発作との関連は明らかとならなかった。

【結 論】

この研究では、海馬において遺伝的に NPY 含量の高いラットにけいれん発作が生じ、その発作によりさらに NPY 含量が増加する可能性を示した。これらの結果は異なる遺伝性てんかんモデルラットにおいて共通しており、てんかん発作の機序に普遍的に関与するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は遺伝性てんかんモデルの一つ Ihara's Genetically Epileptic Rat の脳におけるニューロペプチド Y、ソマトスタチンおよびコルチコトロピン放出因子の含有量を測定し、ニューロペプチド Y のみがモデル動物群の発作焦点である海馬において対照群よりも有意に増加していることを見出したものである。

この増加は、自発けいれんを起こさない若齢（2ヶ月）の海馬において既に認められ、自発けいれんを起こす老齢（8ヶ月）ではさらに高度の増加が海馬のみならず中隔、嗅内野および梨状葉において検出された。

以上の結果から、遺伝的に海馬のニューロペプチド Y 含有量が高いラットにけいれん発作が生じ、その発作履歴がさらにこの神経ペプチド含有量を増加させることが証明された。

本研究は、てんかん発作機序の解明に重要な情報を提供した点において、博士（医学）の授与に値するものである。

なお、学力確認の試問を平成12年8月23日に実施し、合格と認められた。